

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Marburg (Lahn)
Direktor: Professor Dr. med. R. Siegert

THESIS

MARBURG

1968

Serologische Typen von *Candida albicans*

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Gunther Kirchhoff

aus Klein-Reetz

Marburg 1968

Serologische Typen von *Candida albicans*

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Gunther Kirchhoff

aus Klein-Reetz

Marburg 1968

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der
Universität Marburg/Lahn am 25.6.1968

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan : Prof.Dr.med. R.Siegert

Referent : Priv.-Doz.Dr.med. H.-L.Müller

Correferent : Prof.Dr.med. R.Siegert

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. <u>Einleitung</u>	1
B. <u>Methodik</u>	2
I. Verwendete Stämme	2
II. Züchtung der Stämme	2
III. Gewinnung der Immunseren	3
a) Homogenisierung	3
b) Immunisierung	3
IV. Gewinnung der Antigene für die Immunelektrophorese	3
V. Immunelektrophorese	4
VI. Absorption	4
VII. Isolierung der γ -Globuline	5
C. <u>Ergebnisse</u>	5
I. Immunelektrophorese mit Stämmen der Typen A und B	5
a) Immunelektrophorese mit homologen Reaktionspartnern	5
b) Kreuzreaktionen zwischen Typ A und B vor und nach Absorption	6
II. Untersuchung von 5 Candida-albicans-Stämmen aus klinischem Untersuchungsmaterial	7
III. Vergleichende Untersuchungen nach Absorption	8
a) Vergleichende Untersuchungen der 5 Stämme untereinander	8
b) Vergleichende Untersuchungen der 5 Stämme mit den Originaltypen A und B	10
IV. Untersuchung über die Verteilung der Typen an weiteren 30 Candida-albicans-Stämmen aus klinischem Untersuchungsmaterial mit absorbierten Immunseren	13
D. <u>Diskussion</u>	14
E. <u>Zusammenfassung</u>	17
F. <u>Literaturverzeichnis</u>	18



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. Einleitung

In morphologischer und biochemischer Hinsicht verhalten sich alle Stämme der Spezies *Candida albicans* gleich, dagegen sollen antigene Unterschiede bestehen. Als erste berichteten 1961 HASENCLEVER und MITCHELL (1) über unterschiedliche Serotypen. Mit Hilfe der Zellagglutination im Reagenzglas konnten sie bei der serologischen Prüfung einer grossen Zahl von *Candida albicans*-Stämmen die beiden antigenen Typen A und B unterscheiden.

1964 bestätigte STALLYBRASS (2) diese beiden Typen. Zu ihrer Differenzierung wandte er eine empfindlichere Methode an, nämlich die Präzipitation im Agar-Gel-Diffusionstest. Danach soll der Unterschied darin bestehen, dass der Typ A im Agar-Gel-Diffusionstest eine Präzipitationslinie mehr bildet als der Typ B.

Im Gegensatz zu den angeführten Autoren konnte BIGUET (3) bei seinen immunoelektrophoretischen Untersuchungen keinen Unterschied zwischen Typ A und B feststellen. Schwache Differenzen in den Präzipitationslinien führte er auf quantitative Unterschiede der Immunseren zurück.

In der vorliegenden Arbeit wird deshalb das serologische Verhalten von *Candida albicans*-Stämmen untersucht und mit den Originalstämmen der Typen von HASENCLEVER und MITCHELL (1) verglichen. Als Untersuchungsmethode diente die Immunelektrophorese in Kombination mit kreuzweiser Absorption. Dieses Verfahren war von MÜLLER (4) als die empfindlichste aller bisher angewandten Methoden zum Nachweis geringer Antigendifferenzen ermittelt worden. Bei der Absorption werden allerdings nur solche Antikörper erfasst, die gegen die Polysaccharide bzw. Glykoproteide der Hefezellwand gerichtet sind. Nach Untersuchungen von MÜLLER und HIRSCH (5) sind im Zellinhalt und in den Zellwänden von *Candida albicans* die gleichen Glykoproteinantigene enthalten. Antikörper, die gegen Proteine des Zellinhaltes gerichtet sind, können

nicht absorbiert werden, weil es bisher keine Möglichkeit gibt, mit den löslichen Eiweissantigenen zu absorbieren. Deshalb müssen die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit auf die Glykoproteinantigene, die in der Immunelektrophorese zur Kathode wandern, beschränkt bleiben.

B. Methodik

I. Verwendete Stämme

Folgende Stämme von *Candida albicans* wurden verwandt:

1. Stamm Nr. 3153 der Gruppe A von HASENCLEVER ^{x)}
2. Stamm Nr. 3156 der Gruppe B von HASENCLEVER ^{x)}
3. 35 *Candida albicans*-Stämme aus klinischem Untersuchungsmaterial des Medizinaluntersuchungsamtes der Universität Marburg. Sie waren biochemisch und durch ihre Chlamydosporenbildung identifiziert worden.

II. Züchtung der Stämme

Die Hefestämme wurden aus der Dauerkultur auf Sabouraud-Maltose-Agar (Difco) in Petri-Schalen überimpft, 24 Std. bei 30 C bebrütet, mit steriler physiol. NaCl-Lösung abgeschwemmt, auf Sabouraud-Maltose-Agar (Difco) in Roux-Flaschen überimpft und weitere 48 Std. bei 30 C bebrütet. Der herangewachsene Zellrasen wurde dann ebenfalls mit steriler physiol. NaCl-Lösung abgeschwemmt und 10 Min. bei 3000 UpM zentrifugiert. Das Sediment wurde 3 mal mit steriler physiol. NaCl-Lösung gewaschen und anschliessend wieder in steriler physiol. NaCl-Lösung aufgenommen, so dass eine ca. 50 Vol%ige Suspension von Hefezellen entstand.

x) Herrn Professor Dr. Seeliger, Hygiene-Institut der Universität Würzburg, danke ich für die Überlassung der Stämme.

III. Gewinnung der Immunseren

a) Homogenisierung

Die suspendierten Hefezellen wurden in dem Zellhomogenisator (MSK der Firma Braun, Melsungen) bei ca. 4000 UpM unter Kühlung mit CO₂-Schnee homogenisiert. Anschliessend erfolgte die Bestimmung des Trockengewichts von 1 ml des gut gemischten Homogenisats nach Oberflächenverdampfung unter Abzug der NaCl-Menge von 9 mg/ml.

b) Immunisierung

Zur Immunisierung erhielten Kaninchen (3-4 kg) ein Gesamtvolumen von 21,0 ml des Homogenisats in die Ohrvenen injiziert, das einer Trockensubstanzmenge von ca. 200 mg entsprach. Bei späteren Versuchen wurden unter gleichen Bedingungen intakte, mit Formalin abgetötete Zellen verwendet.

Zunächst wurden täglich ansteigende Mengen von 0,5 ml, 1,0 ml, 1,5 ml und 2,0 ml, dann jeden zweiten Tag je 2,0 ml injiziert. 5 Tage nach der letzten Injektion wurde eine Blutprobe entnommen und das Serum in der Immunelektrophorese auf seinen Antikörpergehalt geprüft. Der Antikörpertiter galt als ausreichend, wenn sich deutliche, scharf getrennte Präzipitationslinien in der Immunelektrophorese darstellten. Ausserdem erfolgte die Bestimmung des Antikörpertiters mit der Komplementbindungsreaktion. Ein Titer von 1:160 und höher wurde als ausreichend angesehen. Stellten sich die Präzipitationslinien in der Immunelektrophorese nur undeutlich dar oder lag der Titer Komplement-bindender Antikörper unter 1:160, so erfolgte eine Nachimmunisierung. Bei ausreichendem Antikörpergehalt wurden die Tiere entblutet.

IV. Gewinnung der Antigene für die Immunelektrophorese

Die Antigene für die Immunelektrophorese wurden in der gleichen Weise hergestellt wie die Präparationen, die zur

Immunisierung der Tiere verwandt worden waren. Der einzige Unterschied bestand darin, dass die gezüchteten Hefestämme nicht in NaCl-Lösung, sondern in aqua dest. gewaschen und aufgenommen wurden.

V. Immunelektrophorese

Für die Immunelektrophorese nach GRABAR und WILLIAMS (6,7), in der Modifikation von SCHEIDEGGER (8), kam die Apparatur der Firma LKB, Schweden, in Anwendung. Als Puffer diente die Diäthylbarbitursäure-Acetat-Pufferlösung nach MICHAELIS, Ionenstärke 0,1, pH 8,6. Sie enthielt 9,81 g Natriumdiäthylbarbiturat und 6,40 g Natriumacetat-trihydrat, gelöst in 1000 ml aqua dest., und war mit 0,1 n HCl auf pH 8,6 eingestellt.

Als Trägermedium diente Agar. Es wurden 1,2 g "Difco" Agar Spezial-Noble in 50 ml der oben genannten Pufferlösung und 50 ml aqua dest. im siedenden Wasserbad erhitzt und danach auf Objektträger gebracht. Nach dem Erstarren des Agars wurden die ausgestanzten Löcher mit Antigenlösungen ausgefüllt. Die Auftrennung der Fraktionen erfolgte durch einstündige Elektrophorese bei 250 Volt und 50 mA. Anschliessend wurde der ausgestanzte Graben mit Antiserum beschickt. Die Diffusion der Antikörper in den Agar erfolgte während 36 Std. in der feuchten Kammer. Die Präparate wurden nach 12-stündigem Waschen in physiol. NaCl-Lösung durch Auflegen von Filtrierpapier getrocknet und dann mit Amidoschwarz gefärbt.

VI. Absorption

Zur Absorption von Antikörpern aus den Immunseren wurden $\frac{1}{3}$ Vol% Serum, welches im Verhältnis 1:2 mit physiol. NaCl-Lösung verdünnt worden war, und $\frac{2}{3}$ Vol% nicht homogenisiertes Hefezellsediment gemischt, 1 Std. im Wasserbad von 37 C inkubiert und anschliessend 24 Std. bei Kühlschranktemperatur aufbewahrt. Die Trennung von Serum und Zellen erfolgte dann durch 15-minütiges Zentrifugieren bei 3000 UpM. Um die Vollständigkeit der Absorption zu kontrollieren, wurde das Serum mit dem homo-

logen Antigen in der Immunelektrophorese untersucht. Trat keine Präzipitationslinie mehr im Polysaccharidbereich auf, wurde eine vollständige Absorption angenommen.

VII. Isolierung der γ -Globuline

10 ml Immunserum wurden mit 5 ml einer 75%igen Ammonsulfatlösung versetzt. Das über Nacht im Kühlschrank (+4 C) entstandene Präzipitat wurde mit 37,5%iger gekühlter Ammonsulfatlösung gewaschen, daraufhin in 5 ml Wasser gelöst und gegen aqua dest. in der Kälte 3 Tage dialysiert. Waren in der Dialysierflüssigkeit keine SO_4 -Ionen mehr nachweisbar, wurde die γ -Globulin-Lösung gefriergetrocknet und danach in 2 ml steriler NaCl-Lösung aufgenommen.

C. Ergebnisse

I. Immunelektrophorese mit Stämmen der Typen A und B

a) Immunelektrophorese mit homologen Reaktionspartnern

Zunächst wurden die Stämme von *Candida albicans* der Typen A und B in der Immunelektrophorese geprüft. Nach der elektrophoretischen Auftrennung ihrer Homogenisate und nach Auftragen des homologen Antiserums stellten sich Präzipitationslinien sowohl auf der Kathoden- als auch auf der Anodenseite dar. Ein unterschiedliches Verhalten wurde bei diesen Bildern nicht deutlich (Abbildung 1).

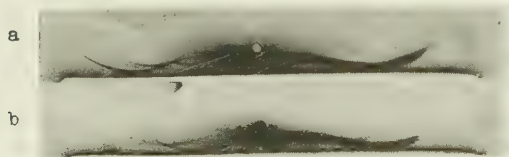


Abbildung 1

Immunelektrophoresen von *Candida albicans*

- a Antiserum gegen Typ A mit dem Homogenisat von Typ A
- b Antiserum gegen Typ B mit dem Homogenisat von Typ B

b) Kreuzreaktionen zwischen Typ A und B vor und nach
Absorption

Bei den Kreuzreaktionen zwischen beiden Typen wurde nicht absorbiertes Immunserum gegen den Stamm A mit dem elektrophoretisch aufgetrennten Homogenisat des Stammes B zusammengebracht. Es zeigte sich, dass zwar die gleichen Präzipitationslinien auftraten wie bei den Reaktionen mit homologen Reaktionspartnern, aber sie waren deutlich schwächer ausgebildet (Abbildung 2).

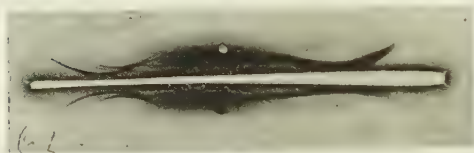


Abbildung 2

Immunelektrophorese mit Antiserum gegen *Candida albicans* Typ A

oben: Homogenisat von *Candida albicans* Typ A

unten: Homogenisat von *Candida albicans* Typ B

Bei der umgekehrten Anordnung liess sich ebenfalls kein Unterschied erkennen.

Daraufhin wurden das Anti-A-Serum mit B-Zellen und das Anti-B-Serum mit A-Zellen absorbiert und die absorbierten Immunseren dann in der Immunelektrophorese mit den homologen Stämmen geprüft. Hierbei stellte sich heraus, dass das Anti-A-Serum mit entsprechendem Homogenisat des Stammes A auf der Kathodenseite eine Linie bildet, die bei Reaktion zwischen Anti-B-Serum mit dem Stamm B dagegen fehlt (Abbildung 3).

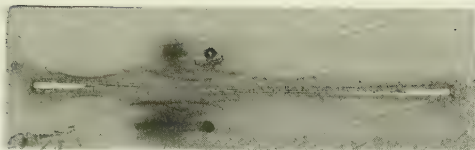


Abbildung 3

Immunelektrophorese mit Antiserum gegen *Candida albicans* Typ A nach Absorption mit Zellen von *Candida albicans* Typ B

oben: Homogenisat von *Candida albicans* Typ A

unten: Homogenisat von *Candida albicans* Typ B

II. Untersuchung von 5 *Candida-albicans*-Stämmen aus klinischem Untersuchungsmaterial

Aus eingesandten Untersuchungsproben des Medizinal-Untersuchungsamtes der Universität Marburg wurden willkürlich 5 *Candida-albicans*-Stämme, die auf Grund ihres Fermentations- und Assimilationsvermögens sowie durch ihre Fähigkeit zur Chlamydosporenbildung identifiziert worden waren, ausgewählt und zu vergleichenden Untersuchungen herangezogen.

Es wurden Immunseren gegen die 5 Stämme hergestellt und jeweils mit dem homologen Reaktionspartner in der Immunelektrophorese geprüft, ohne dass unterschiedliche Präzipitationslinien deutlich gemacht werden konnten.

Auch bei den Kreuzreaktionen zwischen diesen 5 Stämmen mit den heterologen Antiseren zeigten sich keinerlei Unterschiede in den Präzipitationslinien auf der Kathodenseite.

III. Vergleichende Untersuchungen nach Absorption

Auf Bildern von Immunelektrophoresen mit nicht absorbierten Antiseren sind feinere Unterschiede wegen der grossen Zahl an Präzipitationslinien, die zum Teil eng beieinander liegen und sich überschneiden, kaum zu erkennen. Deshalb wurden die Antiseren absorbiert, und zwar jeweils mit Zellen des heterologen Stammes, mit dem der Vergleich durchgeführt werden sollte. Das absorbierte Immunserum wurde dann in der Immunelektrophorese gegen den homologen Stamm geprüft. Traten nach der Absorption auf der Kathodenseite Präzipitationslinien auf, so wurde angenommen, dass ein Unterschied bezüglich der Zahl der Antigene zwischen beiden Stämmen bestand.

a) Vergleichende Untersuchungen der 5 Stämme untereinander

Jedes der 5 Immunseren wurde mit den 4 heterologen Stämmen von *Candida albicans* absorbiert und in der Immunelektrophorese mit dem homologen Stamm auf die Bildung von Präzipitationslinien geprüft. Dabei stellte sich heraus, dass das Antiserum, welches gegen den Stamm 326 gerichtet war, sowohl nach der Absorption mit den Zellen des Stammes 328, als auch nach der Absorption mit den Zellen des Stammes 329 keine Präzipitationslinien mehr auf der Kathodenseite bildete. Nach der Absorption mit den Stämmen 327 und 330 dagegen kam mit dem Homogenisat des Stammes 326 noch eine Präzipitationslinie auf der Kathodenseite zur Darstellung. Das Immunserum gegen den Stamm 327 bildete nach der jeweiligen Absorption mit den Zellen der Stämme 326, 328, 329 und 330 keine Präzipitate auf der Kathodenseite. Das gegen den Stamm 330 gerichtete Antiserum konnte dagegen nach der jeweiligen Vorabsorption mit den Stämmen 326, 327, 328 und 329 stets ein zur Kathode gewandertes Antigen des homogenisierten Stammes 330 präzipitieren. Die Immunseren gegen die Stämme 328 und 329 waren nach der Absättigung mit den Zellen des Stammes 326 dazu nicht in der Lage. Nach der Absorption mit den Zellen der Stämme 327 und 330 entwickelte sich jeweils eine Präzipitationslinie auf der Kathodenseite (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1
Kreuzabsorptionen von 5 Candida-albicans-Stämmen.
Auswertung der Immunelektrophoresen.

Serum gegen den Stamm	absorbiert mit Zellen des Stammes	geprüft mit dem Homogenisat des Stammes	Präzipitations- linie auf der Kathodenseite
326	327	326	+
327	326	327	-
326	328	326	-
328	326	328	-
326	329	326	-
329	326	329	-
326	330	326	+
330	326	330	+
327	328	327	-
328	327	328	+
327	329	327	-
329	327	329	+
327	330	327	-
330	327	330	+
328	329	328	-
329	328	329	-
328	330	328	+
330	328	330	+
329	330	329	+
330	329	330	+

Zeichenerklärung:

326 - 330 = Nr. der Stämme

+ = Präzipitationslinie auf der Kathoden-
seite

- = keine Präzipitationslinie auf der
Kathodenseite

Demnach verhielten sich die Stämme 326,328 und 329 untereinander völlig gleich,während sich sowohl der Stamm 327 von den Stämmen 326,328,329 und 330,als auch der Stamm 330 von den Stämmen 326,327,328 und 329 unterschieden.

b) Vergleichende Untersuchungen der 5 Stämme mit den Originaltypen A und B

Um die Zugehörigkeit der genannten 5 Stämme aus klinischem Untersuchungsmaterial zu einem der von anderen Autoren (1,2) mit verschiedenen Methoden nachgewiesenen Typen A und B festzustellen,wurden sie damit in der Immunelektrophorese nach Absorption verglichen. Die 5 Immunseren, die gegen die Stämme 326 bis 330 gerichtet waren,wurden jeweils mit Zellen des Typs A oder B vorabsorbiert.Umgekehrt sind die Antiseren gegen die Typen A und B jeweils mit Zellen der Stämme 326 bis 330 absorbiert worden.Dabei stellte sich heraus,dass die Immunseren 326,328 und 329 nach der Absorption mit Zellen des Typ A auf der Kathodenseite keine,nach Absättigung mit Typ B dagegen noch eine Präzipitationslinie bildeten. Das Anti-A-Serum und das Anti-B-Serum zeigten nach der Vorabsorption mit den Stämmen 326,328 und 329 keine Präzipitationslinien mehr auf der Kathodenseite.Ebenso verhielt sich das Immunserum gegen den Stamm 327 nach der Absorption mit Zellen der Stämme A oder B.Das Anti-A-Serum präzipitierte nach der Absorption mit Zellen des Stammes 327 ein zur Kathode wanderndes Antigen,das Anti-B-Serum dagegen nicht.Das Immunserum gegen den Stamm 330 bildete nach der Absorption sowohl mit Zellen des Stammes A als auch des Stammes B eine Präzipitationslinie auf der Kathodenseite (Abbildung 4),ebenso das Anti-A-Serum nach der Absorption mit Zellen des Stammes 330 (Abbildung 5),nicht dagegen das Anti-B-Serum (siehe Tabelle 2).

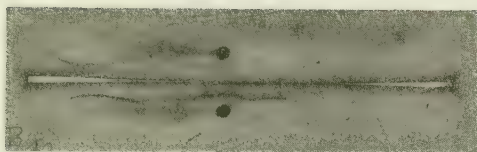


Abbildung 4

Immunelektrophorese mit Antiserum gegen *Candida-albicans*-Stamm 330 nach Absorption mit Zellen von *Candida albicans* Typ A

oben: Homogenisat von *Candida albicans* Typ A

unten: Homogenisat von *Candida-albicans*-Stamm 330

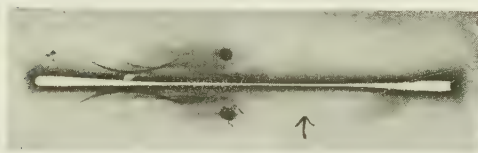


Abbildung 5

Immunelektrophorese mit Antiserum gegen *Candida albicans* Typ A nach Absorption mit Zellen von *Candida-albicans*-Stamm 330

oben: Homogenisat von *Candida-albicans*-Stamm 330

unten: Homogenisat von *Candida albicans* Typ A

Daraus ergab sich, dass die Stämme 326, 328 und 329 serologisch mit Typ A, der Stamm 327 mit Typ B übereinstimmten. Der Stamm 330 verhielt sich weder wie Typ A noch wie Typ B.

Tabelle 2

Vergleichende Untersuchungen der 5 Candida-albicans-Stämme mit den Originaltypen A und B.
Auswertung der Immunelektrophoresen.

Serum gegen den Stamm	absorbiert mit Zellen des Stammes	geprüft mit dem Homogenisat des Stammes	Präzipitations- linie auf der Kathodenseite
326	A	326	-
A	326	A	-
326	B	326	+
B	326	B	-
327	A	327	-
A	327	A	+
327	B	327	-
B	327	B	-
328	A	328	-
A	328	A	-
328	B	328	+
B	328	B	-
329	A	329	-
A	329	A	-
329	B	329	+
B	329	B	-
330	A	330	+
A	330	A	+
330	B	330	+
B	330	B	-

Zeichenerklärung:

326 - 330 = Nr. der Stämme

A = Originaltyp A

B = Originaltyp B

+ = Präzipitationslinie auf der Kathoden-
seite

- = keine Präzipitationslinie auf der
Kathodenseite

IV. Untersuchung über die Verteilung der Typen an weiteren
30 Candida-albicans-Stämmen aus klinischem Untersuchungs-
material mit absorbierten Immunsereen

Um festzustellen, ob es sich bei dem Candida-albicans-Stamm 330, welcher sich serologisch weder in Typ A noch B einordnen liess, um einen Einzelfall handelt oder ob ein derartig abweichendes Verhalten häufiger vorkommt, wurden 30 innerhalb des letzten halben Jahres in unserem Untersuchungsamt isolierte Stämme auf ihre Zugehörigkeit zu den bereits bekannten Typen geprüft. Diese 30 Stämme wurden jeweils mit den kreuzweise absorbierten Antisereen in der Immunelektrophorese zur Reaktion gebracht und zwar

1. mit Anti-A-Serum, das mit B-Zellen absorbiert worden war,
2. mit Anti-A-Serum nach Vorabsorption mit Zellen des Stammes 330,
3. mit Anti-B-Serum nach Absättigung mit A-Zellen,
4. mit Anti-B-Serum, welches mit Zellen des Stammes 330 absorbiert worden war,
5. mit Anti-330-Serum nach Absorption mit A-Zellen,
6. mit Anti-330-Serum, das mit B-Zellen absorbiert worden war.

Dabei ergab sich, dass sich das Homogenisat von 23 Stämmen wie das Homogenisat des Stammes A, das Homogenisat von 3 Stämmen entsprechend dem Homogenisat des Stammes B und 4 Stämme wie das Homogenisat des Stammes 330 verhielten. Demnach muss es neben den beiden bekannten Typen noch einen Typ C geben.

D. Diskussion

Zur Beantwortung der Frage, ob es innerhalb der morphologisch und biochemisch einheitlichen Spezies *Candida albicans* serologisch differierende Stämme gibt, wurden 5 willkürlich ausgewählte, aus klinischem Untersuchungsmaterial isolierte *Candida-albicans*-Stämme untersucht und mit den Originalstämmen von HASENCLEVER verglichen. Zunächst wurden durch Immunisierung von Kaninchen Antiseren gegen alle 5 Stämme gewonnen sowie in der Immunelektrophorese gegen die homologen Antigene und durch kreuzweise Kombination der Reaktionspartner daraufhin geprüft, ob eine Differenz in der Zahl der Präzipitationslinien besteht.

Zur Immunisierung der Kaninchen ist das Homogenisat der Stämme, welches sowohl die Antigene des Zellinhalts als auch die der Zellwand enthielt, verwandt worden. Dem entsprechend befanden sich in den Antiseren Antikörper sowohl gegen Zellwand- als auch gegen Zellinhaltantigene. Die Immunelektrophoretischen Bilder zeigten eine grosse Zahl von Präzipitationslinien, von denen einige auf der Kathoden-, andere auf der Anodenseite lagen. Die Präzipitationslinien auf der Kathodenseite entsprachen den antigen wirksamen Glykoproteinen der Zellwand und des Zellinhalts, die nach Mitteilungen von MÜLLER und HIRSCH (5) bei der elektrophoretischen Auftrennung des Homogenisats kathodwärts wandern, die Präzipitationslinien auf der Anodenseite entsprachen den Eiweissantigenen des Zellinhaltes.

Bei einem Vergleich der Immunelektrophoretischen Bilder, die durch Verwendung von Seren gewonnen wurden, welche Antikörper sowohl gegen Zellwand- als auch gegen Zellinhaltantigene enthielten, konnte ein Unterschied in der Zahl der Präzipitationslinien unter den 5 *Candida-albicans*-Stämmen nicht eindeutig nachgewiesen werden.

Mit den gleichen Methoden wurden gleichzeitig zwei *Candida-albicans*-Stämme untersucht, die von HASENCLEVER (1) durch Zellagglutination im Reagenzglas als serologisch verschieden erkannt und mit A und B bezeichnet worden

waren. Auch hier liess sich kein eindeutiger Unterschied in der Zahl der Präzipitationslinien feststellen. Es war jedoch auffällig, dass die Präzipitate, die bei Immunelektrophoresen mit heterologen Reaktionspartnern entstanden, schwächer ausgebildet waren als die Linien mit homologen Reaktionspartnern. Auch BIGUET (3) hatte bei seinen immunelektrophoretischen Untersuchungen entsprechende Beobachtungen gemacht. Hieraus zog er die Schlussfolgerung, dass nur quantitative Unterschiede bestünden.

Nach diesen ergebnislosen Immunelektrophoresen mit Antiseren, die sowohl gegen Zellwand- als auch gegen Zellinhaltsantigene gerichtete Antikörper enthielten, wurden absorbierte Seren verwandt, um das serologische Verhalten der Stämme zu prüfen. Die Absorption erfolgte mit intakten Zellen, sodass nur diejenigen Antikörper abgesättigt werden konnten, die gegen Glykoproteinantigene gerichtet waren. Da die Antigene, deren Antikörper absorbiert werden können, kathodenwärts wandern, konzentrierte sich der Vergleich der immunelektrophoretischen Bilder, die durch Verwendung von absorbierten Seren entstanden, nur auf die Kathodenseite.

Nach der kreuzweisen Absorption der Antiseren gegen die Typen A und B stellte sich heraus, dass das Anti-A-Serum einen Antikörper mehr enthielt als das Anti-B-Serum. Es kann daraus geschlossen werden, dass der *Candida albicans*-Stamm A ein Antigen mehr besitzt als der Stamm B.

Nach der kreuzweisen Absorption der Antiseren gegen die 5 *Candida albicans*-Stämme, die aus klinischem Untersuchungsmaterial isoliert worden waren, ergab sich, dass die Stämme 326, 328, 329 und 330 ein Antigen mehr besitzen als der Stamm 327. Weiterhin zeigte sich, dass der Stamm 330 zwar die gleiche Zahl von Antigenen aufweist wie die Stämme 326, 328 und 329, aber sich durch ein spezifisches Antigen von ihnen unterscheidet.

Somit konnten die 5 Stämme in 3 serologisch verschiedene Gruppen eingeteilt werden:

1. Gruppe: Stämme 326,328,329

2. Gruppe: Stamm 327

3. Gruppe: Stamm 330

Diese 3 Gruppen wurden nun mit den Originalstämmen A und B von HASENCLEVER unter Verwendung kreuzweise absorbiert Seren verglichen. Danach sind die Stämme 326,328 und 329 mit dem Stamm A, der Stamm 327 mit dem Stamm B, der Stamm 330 aber weder mit Stamm A noch B identisch.

Die Untersuchungsergebnisse, die im Kapitel C, IV dargelegt sind, zeigen, dass die abweichenden serologischen Eigenschaften des Stammes 330 bei mehreren *Candida albicans*-Stämmen nachgewiesen werden konnten. Diese Stämme gehören somit einem dritten serologischen Typ von *Candida albicans* an, der in Fortführung der Nomenklatur von HASENCLEVER (1) als Typ C bezeichnet wurde.

Die vorliegenden Untersuchungen bestätigen die Befunde von HASENCLEVER und MITCHELL (1), STALLYBRASS (2) sowie LESKOWNICKA (9), dass die Spezies *Candida albicans* serologisch nicht einheitlich ist. BIGUET (3) und TSUCHIYA (10) sind wohl deshalb zu einem anderen Ergebnis gelangt, weil ihre Untersuchungsmethoden wahrscheinlich ungeeignet waren, um geringere qualitative Differenzen zu erfassen.

Nach dem Reaktionsverhalten der verschiedenen Stämme kann angenommen werden, dass sich unter den von anderen Autoren als B-Typ klassifizierten *Candida albicans*-Stämmen noch eine Anzahl von C-Stämmen befindet. Diese Annahme scheint deshalb berechtigt, weil das mit A-Zellen absorbierte Anti-B-Serum nicht in der Lage ist, mit A-, B- oder C-Zellen zu reagieren. Dagegen erfasst das mit B-Zellen absorbierte A-Serum eindeutig nur A-Stämme.

Bei Immunisierungen mit einer noch grösseren Zahl von *Candida albicans*-Stämmen dürfte es durchaus möglich sein, dass noch weitere Antigenmuster aufgedeckt werden.

E. Zusammenfassung

Die von einigen Autoren angezweifelte Heterogenität der Spezies *Candida albicans* konnte durch Anwendung der Immunelektrophorese in Kombination mit der Zellabsorption von Antiseren eindeutig bewiesen werden. Stämme der von HASENCLEVER benannten Gruppe A wiesen ein Glykoproteinantigen mehr auf als die Stämme der Gruppe B.

Immunisierungen und Kreuzabsorptionen mit 5 aus klinischem Untersuchungsmaterial isolierten *Candida albicans*-Stämmen liessen erkennen, dass einer dieser Stämme weder mit der Gruppe A, noch mit der Gruppe B antigengleich reagierte. Dieser neue Typ wurde mit C bezeichnet.

Untersuchungen von weiteren 30 *Candida albicans*-Stämmen aus Krankheitsmaterialien ergaben die Zugehörigkeit von 23 Stämmen zur Gruppe A, 3 zur Gruppe B und 4 zur Gruppe C.

F. Literaturverzeichnis

- (1) HASENCLEVER, H.F. and W.O. MITCHELL:
Antigenic studies of *Candida*. I. Observation of two
antigenic groups in *Candida albicans*.
J. Bact. 82 (1961), 570-573
- (2) STALLYBRASS, F.C.:
Candida precipitins.
J. Path. Bact. 87 (1964), 89-97
- (3) BIGUET, J., P. TRAN VAN KY, S. ANDRIEU et J. FRUIT:
Analyse immunoelectrophoretique des antigenes fongique
et systematique des champignons. Repercussions pratiques
sur le diagnostic des mycoses.
Mycopath. et mycol. appl. 26, (1965), 241-256
- (4) MÜLLER, H.-L.:
Vergleichende immunoelektrophoretische Untersuchungen
an Hefen.
Vortrag Tagg. Mykol. Ges. in München (1965)
(Bergmann-Verlag, im Druck)
- (5) MÜLLER, H.-L. und M. HIRSCH:
Zur Antigenstruktur von *Candida albicans* und *tropicalis*.
4. Mitteilung: Immunoelektrophoretische Antigenstudien
an Zellmembran und Zellinhalt.
Zbl. Bakt. I. Orig. 202, (1967), 247-256
- (6) GRABAR, P. et C.A. WILLIAMS:
Methode permettant l'etude conjuguee des proprietes
electrophoretiques et immunochemiques d'un melange
de proteines. Application au serum sanguin.
Biochim. biophysica acta 10 (1953), 193-194
- (7) GRABAR, P. et C.A. WILLIAMS:
Methode immunoelectrophoretique d'analyse de melange
de substances antigeniques.
Biochim. biophysica acta 17 (1955), 64-74
- (8) SCHEIDEGGER, J.J.:
Une micro-methode de l'immuno-electrophorese.
Int. Arch. Allergy 7 (1955), 103-110

- (9) LASKOWNICKA, Z., A. POREBSKA and K. ZEMBUROWA:
The Serological Grouping of *Candida albicans* Strains
Isolated in the Krakow Province in the Years 1963-
1965 by Means of Agar-Gel-Diffusion Test.
Mycopath. et mycol.appl. 33 (1967), Fasc.1, 10-16
- (10) TSUCHIYA, T., Y. FUKAZAWA and S. KAWAKITA:
Significance of serological studies on yeasts.
Mycopath. et mycol.appl. 26 (1965), 1-15

Herrn Professor Dr. med. R. Siebert, Direktor des
Hygiene-Instituts der Universität Marburg/Lahn, danke
ich für die Überlassung des Arbeitsplatzes und für die
uneingeschränkte Unterstützung und Förderung meiner
Arbeit.

Besonders bin ich Priv.-Doz. Dr. med. H.-L. Müller
für die Überlassung des Themas sowie für ihre ständige
Hilfsbereitschaft und freundliche Beratung bei der
Durchführung der Versuche zu tiefem Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Am 23. November 1940 wurde ich als zweites von fünf Kindern des Diplom-Kaufmann Paul Kirchhoff und seiner Ehefrau Erna, geb. Kropp, in Klein-Reetz in Pommern geboren. Von 1947 bis 1951 besuchte ich die Volksschule in Rönkhausen/Sauerland und von 1951 bis 1961 das Humanistische Gymnasium in Dillenburg/Hessen. Nach dem Abitur immatrikulierte ich mich im Sommersemester 1961 als Medizinstudent an der Universität in Bonn und bestand dort 1962 die naturwissenschaftliche und 1964 die Ärztliche Vorprüfung. Nach einem klinischen Studiensemester in Bonn wechselte ich an die Universität in Marburg über und schloss dort 1967 mein Studium mit dem Staatsexamen ab. Seit Herbst 1967 arbeite ich als Medizinalassistent am Staatl. Medizinal-Untersuchungsamt in Dillenburg.

Meine akademischen Lehrer waren:

in Bonn die Herren Professoren und Dozenten
Bayer, Best, Breuer, Daneel, Dirscherl, Egli, von Eiff, Goslar, Habs, Hagen, Hamperl, Imdahl, Klensch, Korte, Kuhnke, Langendörfer, Mehmke, Mosebach, Oberhoffer, Passoth, Pichotka, Rath, Riezler, Rohdewald, Schmitz-DuMont, Schriefers, Schumacher, Stöhr, Tonutti, Tschesche, Welte.

in Marburg die Herren Professoren und Dozenten:
Berendes, Bommer, Braun-Falco, Buchholz, Dölle, Exner, Gedigk, Hamm, Hardewig, Hettler, Heuser, Hildebrandt, Jacob, Knauff, Lang, Linneweh, Löhr, Mann, Martini, Marx, du Mesnil, Rodeck, Rohen, Sauer, Schiff, Schleyer, Schlosser, Schmid, Schwaiger, Siegert, Straub, Streicher, Würterle.

